

ชื่อเรื่อง	ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์บางชนิดของเชื้อเอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกจากทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองในจังหวัดจันทบุรี
ชื่อผู้วิจัย	วิญญู ภักดี และจิรภัทร จันทมาลี
หน่วยงาน	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
ปีงบประมาณ	2566

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีทจากทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองของจังหวัดจันทบุรี ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์บางชนิด และระบุชนิดของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทดลองเริ่มจากการคัดแยกเชื้อจากใบ กิ่ง และรากของทุเรียนด้วยวิธี Surface sterile คัดแยกบนอาหาร Humic acid vitamin (HV) agar ได้เชื้อเอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีททั้งหมด 10 ไอโซเลท เมื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 28753, *Bacillus cereus* TISTR 2372 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 พบว่าแอกติโนมัยซีทไอโซเลท PM-R01 สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR 2372 และ *S. aureus* ATCC 25923 ได้ดีที่สุด มีระยะการยับยั้งเฉลี่ยเท่ากับ 14.33 ± 2.33 และ 13.00 ± 1.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ จากนั้นสกัดสารสกัดหยาบจากเชื้อไอโซเลท PM-R01 ได้สารสกัดหยาบ Ethyl acetate มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลมีน้ำหนัก 0.8767 กรัม มีค่าร้อยละของผลผลิตเท่ากับ 0.0175 เมื่อใช้หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งและฆ่า (Minimum inhibitory concentration; MIC และ Minimum bactericidal concentration; MBC) เชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* TISTR 2372 และ *S. aureus* ATCC 25923 ด้วยวิธี Broth microdilution พบว่ามีค่า MIC มากกว่า 1,024 $\mu\text{g/ml}$ และที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเดียวกันนี้พบว่าสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งสองได้ไม่น้อยกว่าร้อยละ 98 (MBC₉₈ เท่ากับ 1,024 $\mu\text{g/ml}$) เมื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลท PM-R01 พบว่าเชื้อสร้างสปอร์สี่เทา ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบการสร้างเส้นสายสปอร์เรียงตัวแบบ Whorls และมีแขนงแบบ Umbels เรียกว่า Verticillati เมื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA และสร้าง Phylogenetic tree พบว่าเชื้อไอโซเลท PM-R01 จัดอยู่ในสกุล *Streptomyces* มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Streptomyces diastaticus* ที่ร้อยละ 99.65 เมื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อเชื้อราไฟทอปธอรา ทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ L04, M01 และ R01 พบว่าเชื้อเอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีทไอโซเลท KP-R01 สามารถยับยั้งเชื้อราไฟทอปธอรา ทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ มีค่าร้อยละการยับยั้งด้วยวิธี Dual culture เท่ากับ 66.7, 61.2 และ 58.9 ตามลำดับ และยังสามารถยับยั้งเชื้อราไฟทอปธอราได้ที่ร้อยละ 33.3 ด้วยวิธีการประกบจานเพาะเชื้อ นอกจากนั้นสปอร์ที่มีชีวิตของเชื้อแอกติโนมัยซีทนี้ยังสามารถยับยั้งเชื้อราได้ โดยมีค่าร้อยละการยับยั้งเป็น 98.3, 98.0 และ 98.0 ตามลำดับ และเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท KP-R01 ยังสามารถผลิตเอนไซม์ Cellulase บนอาหาร

Carboxy methyl cellulose agar ได้ด้วย เชื้อไอโซเลท KP-R01 จัดอยู่ในสกุล *Streptomyces* และมีความใกล้เคียงกับเชื้อ *Streptomyces lucensis* JCM 4490 (Type strain) ที่ร้อยละ 99.20 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อนี้พบว่าเมื่ออายุน้อยโคโลนีมีสีเหลืองอ่อน มีการสร้าง Substrate mycelium เป็นสีเหลืองอ่อน และ Aerial mycelium เป็นสีขาว ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์มีเส้นใยหึงงอ เส้นสายสปอร์เรียงตัวเป็นสายที่ส่วนปลายม้วนงอ ผลการวิจัยทั้งหมดบ่งบอกว่าเชื้อเอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีทไอโซเลท PM-R01 และไอโซเลท KP-R01 ที่แยกได้จากจากทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองของจังหวัดจันทบุรีนี้ เชื้อไอโซเลท PM-R01 มีศักยภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบชนิด *B. sereus* TISTR 2372 และ *S. aureus* ATCC 25923 ได้ และไอโซเลท KP-R01 ยับยั้งเชื้อเชื้อราไฟทอปธอราได้ และอาจนำไปใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์อื่น ๆ ได้ด้วย และอาจพัฒนาต่อยอดไปเป็นสารชีวภัณฑ์เพื่อประโยชน์ด้านต่าง ๆ ต่อไป

คำสำคัญ: เอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีท, ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์, ทุเรียนพันธุ์พื้นเมือง, *Streptomyces*

Title	Antimicrobial Activity of Endophytic Actinomycetes Isolated from Native Durian Varieties in Chanthaburi Province
Researchers	Winyou Puckdee and Jirapat Chanthamalee
Organization	Faculty of Science and Technology, Rambhai Barni Rajabhat University
Year	2023

Abstract

The objectives of this study were to: isolate endophytic actinomycetes from native durian varieties in Chanthaburi and tested antimicrobial activity isolated from leaves, branches and roots using surface sterile technique, and culture on humic acid vitamin agar. All ten isolated entophytes were tested for their antimicrobial activity to *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 28753, *Bacillus cereus* TISTR 2372 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Among these, only isolate PM-R01 exhibited antibacterial activity against PM-R01 *B. cereus* TISTR 2372 and *S. aureus* ATCC 25923, with average inhibition zones of 14.33 ± 2.33 mm and 13.00 ± 1.00 mm, respectively. The crude extracted of endophytic actinomycete, PM-R01 was extracted using ethyl acetate as solvent showed texture sticky substance and brown color with a weight of 0.8767 g and yield was 0.0175%. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) value were tested by broth microdilution technique. The MIC of PM-R01 crude extract was above 1,024 µg/ml. At this concentration, the extract achieved 98% bacterial kill. Macroscopic characteristic of endophytic actinomycete PM-R01 was gray aerial mycelium. Microscopic characteristic of fiber was studied by slide culture method under the microscope. It was found that the spore lines looked like whorl and umbel, called verticillati, this was the most common in the *Streptomyces* genus actinomycetes. PM-R01 showed closest 16S rRNA gene sequence similarity to *Streptomyces diastaticus* (at 99.65%).

Strain KP-R01 showed the anti-Phytophthora activity, with dual culture inhibition percentages of 66.7, 61.2, and 58.9 against L04, M01, and R01, respectively. KP-R01 also exhibited anti-Phytophthora activity by volatilization, with an inhibition percentage of 33.3. Viable spores of KP-R01 exhibited strong anti-Phytophthora activity, with inhibition percentages of 98.3, 98.0, and 98.0 against L04, M01, and R01, respectively. In addition, KP-R01 produced cellulase on Carboxy methyl cellulose agar. Macroscopic characteristic of young colonies of KP-R01 were light yellow in color, with light yellow substrate mycelium and white aerial

mycelium. Microscopic examination revealed hyphae with irregular branching and spore chains with coiled ends. Based on 16S rRNA gene sequencing, strain KP-R01 was identified as *Streptomyces* sp. and showed 99.20% similarity to *Streptomyces lucensis* JCM 4490 (type strain).

These results suggest that the two endophytic actinomycete isolates, PM-R01 and KP-R01, have potential for microbial control and may be further developed into other biological substances for various benefits.

Keywords: Endophytic, Actinomycete, Anti-microbial, Durian, *Streptomyces*



ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี